



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**DOENÇAS PERIODONTAIS E SUA RELAÇÃO COM PATOLOGIA  
SISTÉMICA E FARMACOTERAPIA ASSOCIADA**

Trabalho submetido por:

**João Tiago Lopes Vitorino**

Para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**Fevereiro 2015**





**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**DOENÇAS PERIODONTAIS E SUA RELAÇÃO COM  
PATOLOGIA SISTÉMICA E FARMACOTERAPIA ASSOCIADA**

Trabalho submetido por:

**João Tiago Lopes Vitorino**

Para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho Orientado por:

**Doutor Nuno Taveira**

**Fevereiro 2015**



## **Dedicatória**

Dedico esta dissertação aos meus pais.

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos os que directa ou indirectamente estiveram envolvidos no desenvolvimento desta monografia

Agradeço ao Prof. Doutor Nuno Taveira pela sua total disponibilidade.

Agradeço também ao Instituto Superior de Ciências De Saude Egas Moniz pela quantidade e qualidade de serviços que me permitiram aceder a toda a informação necessária para a elaboração desta monografia e aos meus professores, que se mostraram sempre disponíveis para esclarecer qualquer dúvida.

Aos meus colegas e amigos que me acompanharam neste percurso.

À Maria Frank, pelo incondicional carinho e motivação.

## **Resumo**

Doenças periodontais são doenças infecciosas, inflamatórias, multifactoriais e de etiologia extremamente complexa.

Englobam diversos parâmetros, desde a susceptibilidade genética do indivíduo até à composição dos biofilmes orais.

Afectam e são afectadas por condições sistémicas.

O controlo e prevenção das doenças periodontais têm impacto, muitas vezes subestimado, na prevenção de patologia sistémica ou atenuação de condições pré-existent.

O objectivo desta Monografia consiste na caracterização microbiológica das doenças periodontais e microbioma oral humano e contextualização dos mesmos em processos biológicos que ocorrem na cavidade oral; na sua interrelação com doenças sistémicas e na descrição de terapêuticas farmacológicas que possam ser eficazes contra agentes etiológicos ou mecanismos envolvidos na génese de quadros patológicos.

## **Palavras-chave:**

Doença Periodontal; Microbiologia; Diabetes; Aterosclerose; Gravidez; Artrite Reumatóide; Terapêutica Farmacológica

## **Abstract**

Periodontal diseases are infectious, inflammatory, multifactorial diseases, with an extremely complex etiology.

They cover several clinical parameters, from individual susceptibility to oral biofilm composition.

They affect and are affected by systemic conditions.

Periodontal disease control and prevention has an (often underestimated) impact on the prevention of systemic pathology or attenuating pre-existing conditions.

This monography's objective consists on the microbiological characterization of periodontal diseases and human oral microbiome, and its contextualization in biological processes that occur in the oral cavity; its interrelation with systemic diseases and the description of pharmacological therapies that may be effective against the etiological agents or mechanisms of those pathologies.

## **Key-words:**

Periodontal disease;Diabetes;Atherosclerosis;Pregnancy; Pharmacological therapy



## Índice

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. DESENVOLVIMENTO .....	11
2.1. Microbiologia das doenças periodontais.....	11
2.1.1. Microbioma oral e seu papel na manutenção de um estado de saúde .....	11
2.1.2. Resposta imunológica e mecanismos antibacterianos endógenos.....	16
2.2. Etiologia de doenças periodontais .....	21
2.2.1 Evolução do estudo de doenças periodontais.....	21
2.2.2 Sistema complemento e seu papel na etiologia de doenças periodontais .....	24
2.2.3 Espécies patogénicas .....	26
2.3 Relação doenças periodontais e doenças sistémicas .....	32
2.3.1 Atrite reumatóide e doenças periodontais .....	33
2.3.2 Aterosclerose e doenças periodontais .....	35
2.3.3 Associação obesidade e diabetes com doenças periodontais .....	36
2.4 Gestação e doenças periodontais .....	39
2.5 Farmacoterapia.....	40
2.5.1 Terapia antibiótica adjuvante de terapia mecânica .....	41
3. CONCLUSÕES.....	44
Bibliografia.....	46

## Índice figuras

<b>Figura 1:</b> Formação de biofilmes, adaptado de (Mahajan, Singh, Kashyap, Kumar, & Mahajan, 2013).....	14
<b>Figura 2:</b> Complexos sockransky, adaptado de (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013) .....	22

## Índice tabelas

**Tabela 1:** Receptores TLRs e seus ligandos, adaptado de (Hans & Hans, 2011).....**Erro! Marcador não definido.**

**Tabela 2:** TLRs expressos nos tecidos periodontais e suas funções, adaptado de (Hans & Hans, 2011) ..... **Erro! Marcador não definido.**

## **1. INTRODUÇÃO**

As doenças periodontais são genericamente caracterizadas como multifactoriais e de etiologia extremamente complexa.

É estimado que cerca de 90% da população mundial apresente algum nível de doença periodontal. (Wade, 2013)

O quadro clínico está associado a inflamação e destruição dos tecidos de suporte das peças dentárias conduzindo, em ultima instância, à perda das mesmas.

Esta patologia está intimamente associada ao grau de desenvolvimento e composição de biofilme na margem sub e supragengival, ao grau de susceptibilidade genética e resposta imunológica do indivíduo, e a factores ambientais.

Factores ambientais determinantes são o tipo de dieta e hábitos tabágicos. Induzem diferenças a nível da composição do microbioma oral que se traduzem em estados patológicos.

Investigação nesta área teve muitos avanços e recuos.

Estão actualmente definidos vários microrganismos associados a doenças periodontais, e não existem duvidas de que são causadas em primeira análise por bactérias.

Contudo, e uma vez que a grande maioria destes agentes patogénicos estão presentes na flora comensal do individuo sem qualquer expressão clínica, não existe consenso sobre se estes microrganismos são a causa da patologia per se, ou se é a instalação progressiva da doença que propociona as condições ideais para a colonização dos locais infectados por organismos específicos.

Actualmente, o estudo dos mecanismos etiológicos das doenças periodontais centra-se na caracterização genómica de espécies bacterianas específicas e compreensão das suas interacções com o sistema imunitário dos hospedeiros.

É realçada a necessidade de aprofundar ainda mais o estudo do microbioma oral humano, seja através de novas técnicas de obtenção de dados, ou métodos de análise de bases de dados existentes.

Várias associações entre doenças periodontais e patologias sistémicas têm sido reportadas e analisadas. Em particular as interações com diabetes, artrite reumatóide, arterosclerose, patologias cardíacas e pulmonares.

Existem ainda indícios de efeitos negativos das doenças periodontais durante o período gestacional.

Terapias mecânicas e/ou farmacológicas, probióticas ou educacional para hábitos de higiene em pacientes periodontais poderão constituir ferramentas importantes para a prevenção ou atenuação de processos patológicos a nível oral e sistémico.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1. Microbiologia das doenças periodontais**

#### **2.1.1. Microbioma oral e seu papel na manutenção de um estado de saúde**

O microbioma oral humano é actualmente o microbioma mais extensamente estudado e documentado.

É densamente colonizado por vários tipos de microrganismos, nos quais se incluem bactérias, fungos, vírus e protozoários (Wade, 2013); (A.Scannapieco, 2013)

As comunidades bacterianas presentes na cavidade oral são extremamente complexas, estimando-se o envolvimento de cerca de 700 espécies (Bartold & Dyke, 2013)

A história das técnicas de estudo bacteriano pode ser resumida em três fases: observação através de microscópio, métodos de cultura bacteriana em meios sólidos e, mais recentemente, métodos de sequenciação sem recurso a cultura bacteriana.

Este avanço permitiu a definição de espécies bacterianas predominantemente características de locais específicos da cavidade oral e a sua organização em bases de dados disponíveis online.

Particularmente importantes são o Microbiome Database (<http://www.homd.org/>) e o CORE (<http://microbiome.osu.edu/>).

Contudo (e não menosprezando os esforços realizados até este ponto), vários autores sugerem uma alta probabilidade de existência de várias espécies ainda por caracterizar, e realçam a importância da continuação do aperfeiçoamento dos actuais métodos de investigação.

A referência a filos específicos de bactérias como colonizadores predominantes da cavidade oral é comum a vários autores.

São predominantes os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes*, *Fusobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Tenericutes* e *Synergistetes*. Incluem-se ainda dois filos não cultiváveis: SR1 e TM7. (A.Curtis, Zenobia, & P.Darveau, 2011)

Dados provenientes de HMD relativos a colonização bacteriana oral em 200 indivíduos saudáveis permitiram uma análise mais detalhada. Foram recolhidas amostras de 9 locais da cavidade oral. Os resultados revelaram 185 a 355 géneros bacterianos, pertencentes a 13-19 filos, com *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus peroris* a dominar os locais de amostra. (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

Análise metagenómica do biofilme inicial (1 dia) de um indivíduo saudável revelou predominância de espécies como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus gordonii*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga ochracea* e *Corynebacterium matruchotti*. (Xie, et al., 2011)

Estes dados permitem deduzir que colonizadores comensais orais humanos são predominantemente aeróbios e aeróbios facultativos gram-positivos; com elevada predominância para o género *Streptococcus*.

Estas comunidades bacterianas estão expostas a um grande número de desafios e alterações a nível ambiental, como o processo mastigatório, flutuações de PH e temperatura, acções mecânicas e químicas de limpeza. A necessidade de acesso a nutrientes induz uma organização em biofilmes; usualmente organizados por afinidades metabólicas (Xie, et al., 2011)

Colonização bacteriana é um processo contínuo e altamente específico, que engloba fenómenos de comunicação entre comunidades bacterianas (Mahajan, Singh, Kashyap, Kumar, & Mahajan, 2013)

Glicoproteínas salivares e fluido crevicular endógeno banham continuamente as superfícies dentárias, constituindo uma película dentária aderida, que se estabelece minutos após processos de limpeza.

Os primeiros locais a serem colonizados são os espaços interdentários e margens gengivais. (A.Scannapieco, 2013)

Colonizadores iniciais possuem mecanismos específicos de adesão a esta película resultantes de mecanismos evolutivos. Deste modo, estão equipados para colonizar estas superfícies mais rápida e eficientemente que qualquer outro microorganismo. Depois de estabelecidos, vão servir eles próprios como locais de fixação para as outras espécies colonizadoras intermédias e tardias, como *Fusobacterium nucleatum*, *P.gingivalis spp*; *Treponnema spp*; e *Aggregatibacter actinomicetemcomitans*. (Mahajan, Singh, Kashyap, Kumar, & Mahajan, 2013)

O género *Streptococcus* assume vital importância em termos de mecanismos de sobrevivência e formação de biofilmes bacterianos neste ambiente ( Figura 1). Expressa longos polímeros proteicos apelidados de pili, que se ligam covalentemente a outras bactérias, a células do hospedeiro ou a moléculas da película dentária. Existe toda uma panóplia de estruturas semelhantes que permitem adesão a moléculas ( $\alpha$ -amilase,

glicoproteínas da película dentária, ancoragem em peptidoglicano) e outras bactérias (especificamente *Actinomyces oris* e *P.gingivalis*). (Wright, Burns, Jack, Back, & C., 2014); (Mahajan, Singh, Kashyap, Kumar, & Mahajan, 2013)

Microbiomas bacterianos comensais são considerados estáveis e essenciais para a manutenção de um estado de saúde oral e sistêmica. Impedem a colonização por parte

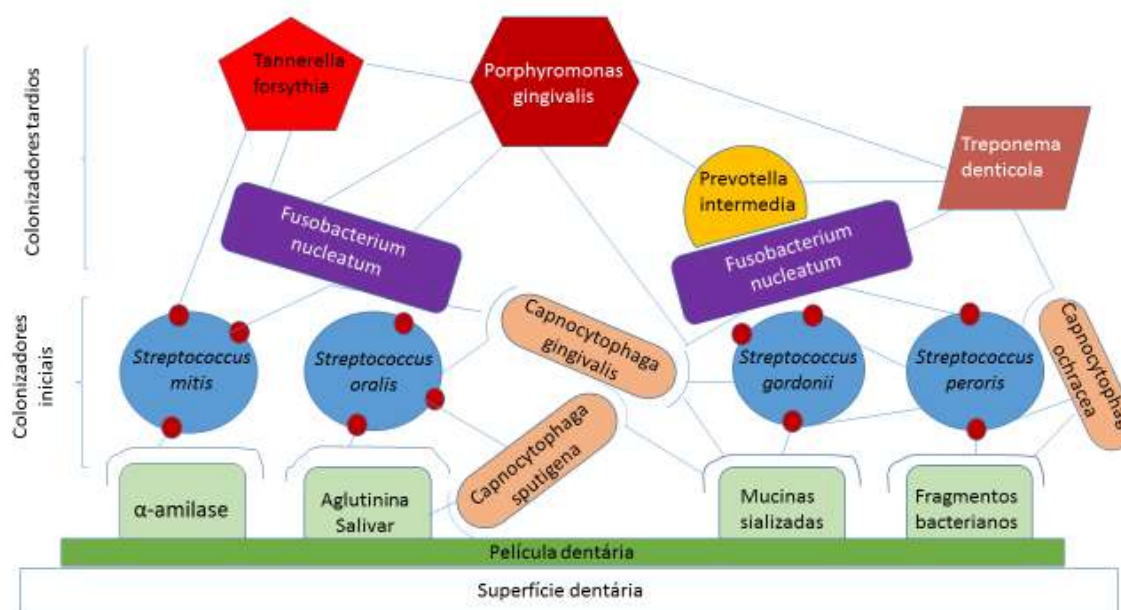


Figura 1: Formação de biofilmes, adaptado de (Mahajan, Singh, Kashyap, Kumar, & Mahajan, 2013)

de

espécies patogênicas e mantêm uma modulação do sistema imunitário consistente com um estado de homeostase. Estão até implicados em mecanismos de manutenção de saúde cardiovascular. (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014); (Wade, 2013)

É sugerido que esta estabilidade se deve ao desenvolvimento de tolerância ao microbioma materno durante o período gestacional, cuja colonização é facilitada no momento do nascimento. (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

A placenta pode funcionar como um local de recolha de antígenos e induzir tolerância selectiva no sistema imunitário fetal. Tolerância esta que se prolonga, pelo menos, até ao início da vida adulta.



Esta hipótese permite reavaliar gengivite gestacional como um mecanismo importante para a moldagem do microbioma oral humano, ao invés de um mecanismo patológico. Ao ser induzida permeabilidade vascular, é facilitado o acesso de bactérias comensais ao ambiente placentário, cordão umbilical e fluido amniótico (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

Põe-se, no entanto, a questão de invasão do ambiente placentário por microrganismos com maior potencial patogénico. Existe a possibilidade de indução de tolerância imunológica a microrganismos transitórios ou com um maior potencial patogénico, caso estejam presentes no microbioma oral materno durante o período gestacional. Esta hipótese poderá explicar a aparente susceptibilidade individual na iniciação de certas formas de periodontite.

Outras influências sugeridas para a composição do microbioma oral pós-natal incluem o método de nascimento (o primeiro contacto com microrganismos é diferente quando o nascimento ocorre por cesariana ou por via vaginal) e o método de alimentação (amamentação induz presença de lactobacilos com propriedades antimicrobianas, o que não se observa em bebés alimentados com recurso a fórmulas sintéticas). (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

Numa posterior fase de desenvolvimento, factores como a alimentação e hábitos tabágicos, e mesmo transmissão horizontal por parte de indivíduos em ambiente comum não podem ser descartados no processo de moldagem do microbioma oral.

A fixação de colonizadores iniciais inibe a instalação de bactérias patogénicas, seja por ausência de locais de fixação ou por competição nutricional.

Evidência sugere ainda actividade antagónica para patogéneos orais por parte de espécies como *Streptococcus salivarius* e *Lactobacilus*. (Wade, 2013)

À medida que o biofilme inicial amadurece, observam-se mudanças qualitativas. Bactérias gram-positivo aeróbicas e aeróbicas facultativas sacarolíticas são gradualmente substituídas por bactérias gram-negativo anaeróbicas proteolíticas com um maior potencial patogénico. (A.Curtis, Zenobia, & P.Darveau, 2011); (Wright, Burns, Jack, Back, & C., 2014)

Em fases posteriores, assumem particular relevo espécies bacterianas como *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*.

### **2.1.2. Resposta imunológica e mecanismos antibacterianos endógenos**

Embora exista uma relativa tolerância, o sistema imunitário humano desenvolve uma interação contínua com o microbioma comensal bacteriano através de mecanismos de resposta inata e adaptativa, num contexto de homeostase.

Células presentes na mucosa oral englobam queratinócitos, macrófagos, células dendríticas e leucócitos polimorfonucleares. Células dendríticas assumem particular importância ao mediar a intensidade de resposta imunológica para bactérias patogênicas e tolerância para antígenos de bactérias comensais. (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

Existe uma íntima relação entre a superfície exterior das peças dentárias e os tecidos periodontais que as envolvem. Estes tecidos são altamente especializados e possuem características destinadas a facilitar o trânsito de neutrófilos. Este epitélio é altamente poroso, com largos espaços intracelulares, menor número de desmossomas quando comparado com tecido circundante, e livre de tight junctions. (A.Curtis, Zenobia, & P.Darveau, 2011)

À medida que os biofilmes amadurecem e espécies com maior potencial patogénico se vão instalando, os desafios a nível imunológico mudam.

Imunidade inata funciona através de receptores específicos expressos por células imunológicas e tecidos do hospedeiro (TLRs – Toll-like Receptors: glicoproteínas transmembranares), que reconhecem padrões moleculares específicos bacterianos (PAMPS – Pathogen Associated Molecular Patterns; incluem lipopolissacárido bacteriano, peptidoglicano, lipoproteínas, e material genético bacteriano). (Hans & Hans, 2011)

**Tabela 1: Receptores TLRs e seus ligandos, adaptado de (Hans & Hans, 2011)**

Receptores Toll-like (TLRs)	Ligandos
TLR1	Lipoproteínas Triacyl
TLR2	Lipoproteínas, Peptidoglicano, ácido Lipoteicóico, LPS e Fímbrias de <i>Porphyromonas gingivalis</i> , LPS de <i>Capnocytophaga ochracea</i>
TLR3	RNA cadeia dupla
TLR4	LPS de <i>Eschereshia coli</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Actinobacillus actinomicetemcomitans</i> e <i>Fusobacterium nucleatum</i>
TLR5	Flagelina
TLR6	Peptidoglicano, Ácido lipoteicóico, lipoproteínas diacil
TLR7	Imidazquinoline
TLR8	RNA cadeia única, Imidazquinoline
TLR9	DNA bacteriano
TLR10	Indeterminado

Os TLRs de células epiteliais gengivais estão sob estímulo constante. Este estímulo induz a produção de  $\beta$ -defensinas antibacterianas, IL-8 e componentes de vias de sinalização para o recrutamento de células do sistema imunológico (neutrófilos, leucócitos polimorfonucleados, macrófagos e células dendríticas, no caso dos tecidos periodontais).

**Tabela 2: TLRs expressos em tecidos periodontais e suas funções, adaptado de (Hans & Hans, 2011)**

<b>Células Periodontais</b>	<b>TLRs</b>	<b>Função</b>
Células epiteliais gengivais	TLR 2,3,4,5,6 e 9	Indução de metaloproteases de matriz; produção de IL-8; indução de adesão e migração de leucócitos
Fibroblastos gengivais	TLR 2,4,9	Indução da produção de IL-8 e outras citocinas pro-inflamatórias
Endotélio	TLR 1,3,4,5	Indução de migração de células imunológicas para o sulco gengival e produção de citocinas e quimioquinas pro-inflamatórias
Osteoblastos	TLR 1,4,5,6,9	Indução de produção de IL-8; TNF- $\alpha$ e reabsorção óssea; Indução RANKL
Osteoclastos	TLR 2,4	Aumento de actividade osteoclástica
Cementoblastos	TLR 2, 4	Inibição RANKL
Fibroblastos do ligamento periodontal	TLR 2, 4	Produção de citocinas pro-inflamatórias e proteases

Neutrófilos são constantemente recrutados para os tecidos periodontais. A circulação de neutrófilos nos tecidos periodontais é promovida por quimiotaxia, e nesta dinâmica são particularmente importantes as moléculas IL-8 (atrai neutrófilos para o biofilme adjacente), ICAM-1 (associada a saída de neutrófilos do tecido vascular e trânsito por tecido conjuntivo) e E-selectina. Expressam todos os TLRs com exceção de TLR3. (Hans & Hans, 2011)

Estes neutrófilos circulantes vão permitir uma modulação e controlo dos biofilmes que se estabelecem nas superfícies dentárias e tecidos periodontais adjacentes. A alta incidência de periodontite em indivíduos com baixos níveis de neutrófilos circulantes ou defeitos congénitos no extravasamento dos mesmos parece corroborar esta assunção. (A.Curtis, Zenobia, & P.Darveau, 2011)

Existe uma constante monitorização das células endoteliais por parte de células imunológicas, nomeadamente leucócitos. Em condições de inflamação, células endoteliais expressam moléculas específicas ( ICAM-1 e IL-8) e induzem uma forte resposta diapedética e adesiva leucocitária. (Duarte, et al.)

Ao lidarem com bactérias gram-negativo, neutrófilos actuam principalmente ao nível da destruição de membranas, através da produção de grânulos contendo proteínas catiónicas (Duarte, et al., 2012), enquanto macrófagos estão envolvidos em processos de fagocitose.

A ligação de PAMPs à superfície de macrófagos está envolvida na expressão de imunidade adaptativa. (Hans & Hans, 2011)

Como resposta e estratégia de sobrevivência, bactérias anaeróbias produzem superóxido dismutases, hidróperóxido redutase e catalases.

Catalases são específicas para a degradação de peróxido de hidrogénio em água e oxigénio. (T.Pöllänen, Paino, & Ihalin, 2013)

Outro factor para o controlo do microbioma oral humano é a presença de saliva. Os seus componentes contribuem tanto para a restrição da acumulação bacteriana como para a

sua destruição. Contém mucinas que induzem agregação bacteriana, inibindo a ligação à superfície dentária e facilitando o processo de deglutição é facilitado. (A.Curtis, Zenobia, & P.Darveau, 2011); (Wakabayashi, et al., 2010)

São componentes salivares com capacidade para modular o microbioma oral: lactoferrina, aglutininas, lisosima, peroxidases, histatinas, mucinas e defensinas. (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

Lactoferrina é uma glicoproteína presente em secreções exócrinas e grânulos de neutrófilos. É referida como agente anti-microbiológico contra bactérias periodontopáticas, agente antiviral, agente antioxidante, imunomodulador, modulador de crescimento celular e como marcador para a severidade de periodontite. (Wakabayashi, et al., 2010)

Estes autores analisaram in vitro a actividade antagónica da lactoferrina em relação a espécies bacterianas associadas a periodontite. Concluíram que inibe o crescimento de *P.gingivalis* e *P.intermedia*.

Conduziram outro estudo envolvendo 18 pacientes com periodontite crónica, com a duração de 3 meses. Oito pacientes ingeriram uma tablet contendo 0,3 g de bLF e 10 pacientes ingeriram um placebo. Ocorreu uma redução significativa nos níveis bacteriológicos da placa subgingival, comparativamente ao grupo placebo. É sugerido que bLF seria um bom candidato relacionado com alimentação para a promoção de saúde periodontal.

A expressão local de Imunoglobulina secretória A é também um importante factor de regulação. Estes anticorpos estão presentes na saliva e fluido crevicular, e controlam adesão e colonização bacteriana. (Zaura, A.Nicu, P.Krom, & BartJ.F.Keijser, 2014)

## **2.2. Etiologia de doenças periodontais**

### **2.2.1 Evolução do estudo de doenças periodontais**

A palavra “etiologia” é definida como a causa ou causas de uma doença ou condição anormal. Por sucessão lógica, define a palavra “causa” como um evento, condição ou característica necessária para ocorrência da doença no momento em que ocorreu, estando imutáveis outras variáveis.

Tendo em conta os pontos anteriores, é sugerido que o início de uma doença se instala quando todas as condições mínimas de uma causa ocorrem. (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)

A simples presença de bactérias não é, portanto, suficiente para a instalação de um quadro patológico. É necessária a expressão de factores secundários à acumulação bacteriana.

Três principais hipóteses para a etiologia das doenças periodontais foram propostas desde 1965: hipótese de placa não específica; hipótese de placa específica e hipótese de placa ecológica.

A hipótese de placa não específica propunha que a acumulação bacteriana na margem gengival conduzia a inflamação e destruição periodontal por acumulação de produtos tóxicos.

Toda a placa apresentava um igual potencial patogénico, sendo este proporcional à quantidade de placa presente. (Bartold & Dyke, 2013)

Este conceito foi mais tarde desafiado por estudos que demonstravam que nem todos os indivíduos que apresentavam grandes quantidades de placa e índices de gengivite progrediam para periodontite; nem o porquê de alguns indivíduos terem alta susceptibilidade para periodontite com pequenas quantidades de placa. Falhava ainda na explicação de outro parâmetro: a observação clínica de locais adjacentes afectados de forma diferente.

Estas lacunas à elaboração de uma nova teoria: a hipótese de placa específica, que surgiu por volta de 1970. Propunha que locais diferentes da placa bacteriana apresentavam potenciais patogénicos diferentes. Este potencial estava dependente da presença ou ausência de espécies bacterianas específicas cujo metabolismo levava a acumulação de metabolitos tóxicos e destruição tecidual.

Esta hipótese levou a que, durante muitos anos, investigação nesta área se focasse na identificação de grupos ou espécies bacterianas específicas para iniciação e estabelecimento de doenças periodontais.

Nesta fase de investigação, a composição e papel de cinco principais complexos microbiológicos foi descrita por Socransky (1998).

Estes complexos representam ainda hoje uma referência para diversos investigadores em relação a bactérias presentes no biofilme subgingival ( Figura 2).

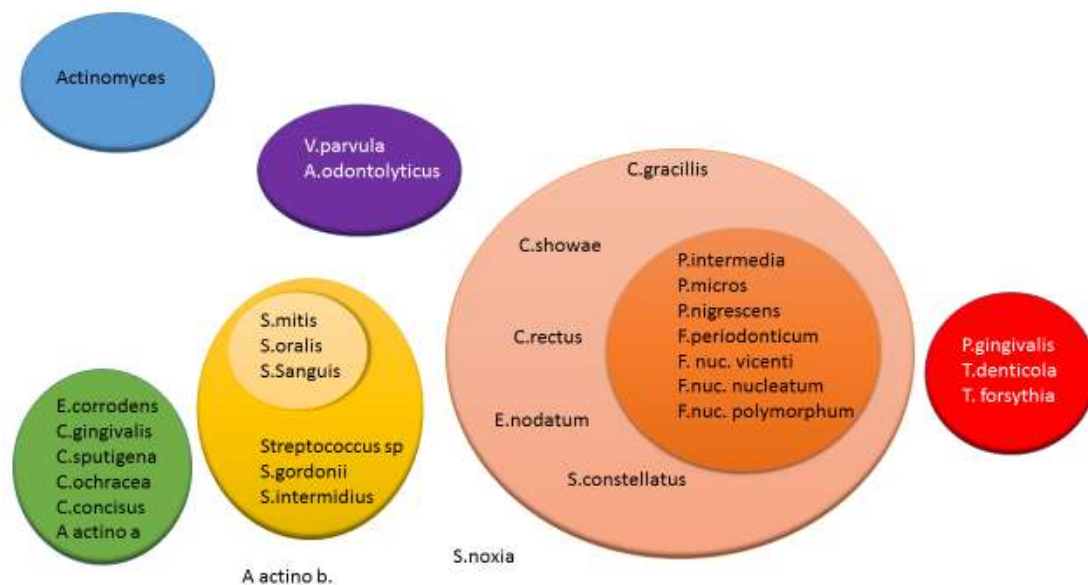


Figura 2: Complexos sockransky, adaptado de (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)



Os complexos microbiológicos descritos variam em cor e potencial patogénico. Complexos amarelo ( espécies de *Streptococcus*) e roxo ( *Veillonella parvula* e *Actinomyces odontolyticus*) são tradicionalmente associados a um microbioma consistente com o estado de saúde periodontal.

Por outro lado, os complexos vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*) e laranja (*Fusobacterium*, *Prevotella*, e espécies de *Campylobacter*) foram associados a estados de doença periodontal. (Bartold & Dyke, 2013)

A hipótese mais recente - hipótese de placa ecológica - surgiu por volta de 1990. Enquadra-se na noção de que o ambiente subgingival dita a composição microbiana.

A acumulação de placa bacteriana subgingival inespecífica induz resposta inflamatória exacerbada, que se traduz numa eventual perda de inserção nos tecidos.

Esta perda de inserção cria nichos específicos que apresentam condições necessárias ao crescimento de bactérias gram-negativo; e o desenvolvimento destas espécies traduz-se no agravamento do quadro patológico.

Ou seja, microorganismos específicos vão colonizar os locais com condições que melhor se adaptem às suas necessidades. (Bartold & Dyke, 2013)

Este conceito levou a um ciclo de investigações inconclusivas, causadas por dificuldades técnicas, complexidade e constante mudança características do microbioma oral e análise de dados obtidos.

No entanto foi possível estabelecer uma lista de candidatos a patogénicos periodontais: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *A.actynomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella malaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvomonas micra*, *Eikenella corrodens*, *Filifactor alocis*, *Prevotella nigrescens*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Treponema denticola*, *Treponema socranskii*, *Eubacterium nodatum*,

*Campylobacter rectus* e *Enterococcus faecalis*. (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)

Actualmente, é possível caracterizar a etiologia das doenças periodontais em 3 vertentes interrelacionadas: presença de patógenos específicos no ambiente subgengival, resposta imunológica e susceptibilidade do hospedeiro.

A iniciação dos processos de destruição parece ocorrer por invasão da barreira epitelial (com consequente disseminação de bactérias e os seus bioprodutos) ou por subversão crónica dos mecanismos de resposta imunológica do hospedeiro (particularmente por *P.gingivalis*, *T.denticola*, *T.forsythia* e *P.intermedia*).

Ambos os mecanismos englobam um quadro de resposta imunológica exacerbada e/ou inadequada que se traduz em destruição dos tecidos periodontais.

### **2.2.2 Sistema complemento e seu papel na etiologia de doenças periodontais**

O fluido gengival de pacientes periodontais é rico em fragmentos provenientes do sistema complemento, enquanto que no caso de indivíduos saudáveis tal não acontece.

Foi observado um aumento progressivo nas quantidades de subprodutos do sistema complemento em humanos voluntários, sujeitos a inflamação gengival induzida experimentalmente – o que sugere um papel determinante deste sistema na instalação e progressão do quadro clínico de doenças periodontais. (Hajishengallis & D.Lambris, 2013)

Estes autores salientam ainda o facto de, após terapia periodontal, se verificar uma redução a nível da conversão de C3 e na expressão genética deste componente. Realçam também uma possível associação entre periodontite agressiva e uma desregulação das funções do complemento a nível genético.

O sistema complemento tem um papel muito importante na modulação de processos imunes e inflamatórios.

Pode ser produzido local ou sistemicamente, e tem diversas funções – singergizar a acção de TLRs, potenciar a formação de barreiras físicas contra bactérias, mobilizar células da medula óssea ou a activação e diferenciação de células T. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013)

É controlado por proteínas membranares solúveis, tais como DAF ( Decay accelerating factor – que acelera a decomposição de diversas moléculas, abrandando os processos em que estão envolvidas), MCPs ( Membrane co-factor Proteins) ou factor H ( específico para o abrandamento da via alternativa). (Hajishengallis & D.Lambris, 2013)

Envolve diversos componentes, dos quais se destacam proteínas séricas (C1 a C9) , receptores para mediadores imunológicos e moléculas reguladoras. Não é activado por tecidos nem expresso na superfície de células do hospedeiro em condições normais. Contudo, uma disrupção nos reguladores deste sistema (por microorganismos patogéneos, polimorfismos ou mutações) pode levar a uma sobreactivação, tendo como consequências resposta inflamatória exacerbada e dano tecidual.

Tem como produto final um complexo de ataque membranar e facilita fagocitose através da deposição de fragmentos bacterianos. (Duarte, et al., 2012)

Este sistema pode ser activado através de três vias distintas – via clássica, via lectina ou via alternativa e todas as vias convergem para C3.

A via clássica é iniciada pelo reconhecimento de complexos antígeno-anticorpo por parte de uma subdivisão de C1 (C1q).

A via lectina é desencadeada pela interacção da molécula MBL com outras moléculas específicas da superfície microbiana (resíduos de manose).

A via alternativa pode ser activada por lipopolisacárideo bacteriano ou por hidrólise espontânea de C3 na presença de determinados factores ( factores B e D). Esta via pode representar mais de 80% do processo de activação do sistema de complemento (Hajishengallis & D.Lambris, 2013)

A activação do complemento está dependente da formação de convertases de C3. Estas podem surgir da clivagem de C4 e C2 (convertases C4b e C2b, que consituem as

convertases das vias lectina e clássica) ou da hidrólise espontânea de C3 ( que induz a via alternativa na presença de factores B e D).

No caso da via alternativa, e se não existir actividade antagónica, esta via vai ser amplificada e induzir a activação das vias classica e lectina. Pode ainda ser iniciada por endotoxinas bacterianas – mas apenas quando estão conectadas a uma proteína plasmática apelidada properdina. (Hajishengallis, Complement and Periodontitis, 2010);ref mal citada (Duarte, et al.)ref incompleta

A activação de C3 por convertases específicas de cada uma das vias origina um conjunto de moléculas efectoras com funções reguladoras e proinflamatórias. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013)

Microorganismos descritos acima possuem capacidade de modulação deste mecanismo de modo a favorecer a sua sobrevivência. Ao se infiltrarem nesta rede de vias de sinalização conseguem inibir, cessar ou desregular a resposta imunitária do organismo a nível sistémico, espiepecificamente em vias do sistema complemento e TLRs. (Hajishengallis & D.Lambris, 2013)

### **2.2.3 Espécies patogénicas**

Espécies consistentemente consideradas patogénicas por diversos investigadores são: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Fusobacterium nucleatum*. Está bem estabelecido o seu grau de contribuição para a iniciação e estabelecimento de patologia periodontal.

O processo de iniciação das doenças peridontais envolve interacções específicas entre estas espécies e colonizadores iniciais, nomeadamente *Streptococcus gordonii*. (Wright, Burns, Jack, Back, & C., 2014)

George Hajishengallis, Richard P.Darveau e Michael A. Curtis (2013) descrevem um estudo conduzido em ratos de laboratório. Baixos índices de colonização de *P.gingivalis* induzem alterações na flora comensal e periodontite. Curiosamente, os mesmos níveis

de colonização desta bactéria falham na iniciação de periodontite em ratos sem biofilme estabelecido. Estes resultados sugerem que sinergia bacteriana é um mecanismo crucial para a criação de condições de sobrevivência de microrganismos patogénicos.

*P.gingivalis* apresenta grande variabilidade genómica e estabilidade clonal, mesmo após terapia periodontal eficaz. (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013) É constantemente referenciado como um dos microorganismos mais intimamente associado a periodontite. Existem altos níveis de evidência para a sua capacidade moduladora da resposta imunológica do hospedeiro e dos biofilmes comensais.

Em amostras obtidas de pessoas sem nenhum grau de parentesco, observaram-se padrões genéticos e enzimáticos diferentes, sem predominância de estirpes bacterianas específicas de *P.gingivalis*. Por outro lado, amostras de indivíduos com elevados graus de parentesco apresentam estirpes bacterianas de *P.gingivalis* muito semelhantes.

É sugerido que as diferenças genéticas ou fenotípicas observadas podem ser factor diferenciador sobre o desenvolvimento de periodontite por parte de indivíduos colonizados por *P.gingivalis*. Especificamente em genes para a expressão de fímbrias. Estudos clínicos demonstram maior capacidade adesiva e invasividade e associação com periodontite severa em linhagens bacterianas que expressam os genes fimA II e fimA IV. (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)

O lipopolisacárido (LPS - lipido A do lado externo; polisacárido nuclear e antígeno-O do lado interno) é particularmente importante para a sobrevivência de *P.gingivalis* e bactérias gram-negativas em geral. Desempenha um papel crucial na modulação da permeabilidade membranar (a moléculas hidrofóbicas e toxinas) e intervém em processos estruturais de proteínas membranares. É, também, um dos factores que confere virulência. Desencadeia uma resposta imunológica intensa por parte do hospedeiro. Este facto deve-se ao reconhecimento do Lípido A por parte de uma proteína apelidada LPS-ligase, que converte componentes do complexo LPS em monómeros e os apresenta a CD14. Posteriormente forma-se um complexo proteico (TLR4-MD2-CD14) presente em macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. A formação deste complexo

sinaliza vias intracelulares que originam a expressão de componentes implicados no processo de patogénese das doenças periodontais – citocinas próinflamatórias e interleucinas 1 $\beta$ , 6 e 8. (Jain & P.Darveau, 2010)

O complexo LPS de *P.gingivalis* apresenta características muito próprias – longas cadeias acil pouco numerosas, e poucos grupos fosfato. Esta bactéria – e outras gram-negativas - parece conseguir modificar a estrutura do lípido A através de fosfatases e acylases, factor que lhe confere vantagem adaptativa (especificamente resistência a polimixina B,  $\beta$ -defensinas e catelicidinas).

Pode expressar 4 tipos diferentes de LPS, e cada um desencadeia diferentes reacções por parte do sistema imune do hospedeiro. Podem ser estimulantes, inertes ou antagonistas.

É interessante notar que a interacção entre *P.gingivalis*, *P.intermédia*, *T.forsythia* e *T.denticola* com o sistema imunitário evoluiu para uma dinâmica de sobrevivência em que estas espécies bacterianas modulam a expressão do sistema complemento dependendo das suas necessidades nutricionais.

Todas têm factores que podem antagonizar ou induzir a acção do complemento ( como referido anteriormente, a alteração da estrutura LPS; expressão de proteases para degradação de C3; expressão de C1 ou sequestro de moléculas activadoras do complemento).

Os factores centrais desta modulação são proteases secretadas (apeladas de gingipaínas para *P.gingivalis*; interpain A para *P.intermedia* e carilisina para *T.forsythia*) que, além de se difundirem pelo fluido gengival e actuarem independentemente da posição das bactérias no biofilme, permitem que todo este biofilme escape às acções líticas por parte das defesas do hospedeiro. Aumenta, portanto, a virulência de outras bactérias antes controladas. Facto este que pode explicar o turnover em termos da composição e potencial patogénico dos biofilmes nas doenças periodontais.

Em baixas concentrações e em estados nutricionais deficitários, estas espécies promovem um aumento regulado da expressão do complemento (via complexo C1). Deste modo, induzem inflamação e extravasamento de fluido gengival rico em nutrientes. Modulam, portanto, o acesso a uma fonte nutricional. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013)

Outras capacidades de *P.gingivalis* e *P.intermedia* para a subversão do sistema complemento do hospedeiro são o sequestro de C4BP ( proteína ligante a células bacterianas que actua como sinalizador), factor I e factor H. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013)

Especificamente, *P.gingivalis* gera C5a. Gingipains de *P.gingivalis* têm a capacidade de actuar como convertases de C5, ou activar trombina em protrombina, que actua também como uma convertase de C5. Este facto parece contra-productivo para a sobrevivência da bactéria, mas na realidade é um factor que impede ou diminui um mecanismo bactericida do hospedeiro baseado na produção de óxido nítrico. Conduz ainda à expressão de citocinas ligadas a reabsorção óssea (IL-1 $\beta$ ;IL-6;IL-17 e TNF) e induz disbiose nos biofilmes. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013); (Hajishengallis & D.Lambris, 2013)

Estes autores reportam que ratos de laboratório mutados para a falha na expressão de C5aR e TLR2, quando colonizados por *P.gingivalis*, não desenvolvem inflamação nem perda óssea periodontal – sugerindo que disbiose é crucial para perda óssea como resultado de inflamação, e em particular, a subversão das dinâmicas C5aR-TLR2 por parte desta bactéria.

Parece ser esta modulação da resposta inflamatória - com consequente falha na remoção de agentes bacterianos e concomitante com a promoção de processos inflamatórios - a causa de danos teciduais e indução do quadro clínico de periodontite. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013)

Outro importante colonizador oral patogénico, *Treponema denticola*, está actualmente bem estudado e caracterizado. Expressa múltiplos factores que lhe conferem virulência ( Dentilisinas, MsP e OppA) e mecanismos de invasão e destruição tecidual. Tem capacidade para evasão e modulação do sistema imunológico do hospedeiro. A sua

sobrevivência está ligada à presença de elementos como o ferro, zinco e manganês e moléculas como albumina e glucose; que obtém do sangue ou fluido crevicular do hospedeiro. Apresenta sistemas quimiotáticos e flagelares bem desenvolvidos, e numerosos sensores ambientais que modulam a sua resposta adaptativa (TCSs). Consistem em 8 sensores histidina quinases e 9 reguladores. Influenciam actividade celular e transcrição genética a vários níveis: síntese de LPS, fímbrias e peptidoglicano, modulação de exposição a oxigénio, sangue e calor, regulação osmótica, e replicação e transcrição de ADN (Visser & Ellen, 2011).

*Treponema denticola* pode induzir resposta imunológica inata e adaptativa através de sinalização TLR2 e TLR4, mediar tolerância imunológica e perturbar actividade neutrófila. Consegue penetrar células epiteliais através de mecanismos de motilidade e proteólise, em que a participação de flagelos e dentilisina é de importância crucial (Visser & Ellen, 2011).

Quanto a *Fusobacterium nucleatum*; é uma das bactérias gram-negativas mais susceptíveis a defensinas do hospedeiro (expressas em maiores quantidades em tecidos saudáveis). É considerado um colonizador promotor de homeostase em tecidos periodontais saudáveis, particularmente pelo aumento selectivo da expressão de defensinas específicas ( h $\beta$ D-2) e bloqueio de proteases secretadas por bactérias patogénicas e neutrófilos. Contudo, sob certas condições, esta bactéria induz resposta inflamatória via citocinas e metaloproteases (particularmente IL-8, MMP-9 e MMP-13). Foi já demonstrado ser um potente indutor de collagenase 3. (Signat, Roques, Poulet, & Duffaut, 2011)

Outro aspecto crucial para esta bactéria é o seu papel na mediação da sobrevivência de *P.intermedia*. Locais não colonizados por *F.nucleatum* não apresentam *P.intermedia*, sugerindo um grau de sinergia extremamente elevado entre estas duas bactérias. (Signat, Roques, Poulet, & Duffaut, 2011)

Novas espécies de bactérias não cultiváveis são sugeridas por vários autores como possíveis agentes etiológicos de doenças periodontais.



P.J Pérez-Chaparro et al (2014) conduziram uma revisão sistemática que quantifica evidência científica relativa a novos potenciais patogêneos periodontais associados com periodontite.

Estes autores seleccionaram 41 estudos de um total de 1450, que se enquadravam nos critérios de inclusão e quantificaram a avaliação em termos de amostras e de indivíduos. São representados estudos incluídos no artigo e os métodos principais; espécies bacterianas encontradas em níveis mais altos em periodontite do que em saúde periodontal (em estudos conduzidos durante pelo menos um ano e estatisticamente significantes) e a estimativa do nível de evidência dos dados recolhidos. (Pérez-Chaparro, et al., 2014)

Os domínios Bacteria, Archaea e Eukharia estão representados.

Do domínio Bacteria são referidos 10 filos (*Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Firmicutes*, *Synergistetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Chloroflexi*, *Tenericutes* e *Candidatus Saccharibacteria*), 68 géneros e 108 espécies bacterianas.

O filo com o maior número de espécies associado foi Firmicutes (39 espécies). O filo com menor número de espécies associado foi Chloroflexi (1 espécie).

Uma espécie do domínio Archaea foi associada a periodontite (*Methanobrevibacter oralis* HOT 815).

21 espécies do género Treponema, que não tinham sido ainda descritas como patogénicas periodontais, foram referidas em 9 estudos. (Pérez-Chaparro, et al., 2014)

Foi atribuído um nível de evidência moderado para divisões taxonómicas descritas em 3 a 5 estudos; e alguma evidência para espécies descritas em 2 estudos.

Dezassete divisões taxonómicas, o filo Candidatus Saccharibacteria e o domínio Archaea foram incluídos no grupo de evidência moderada, enquanto que 15 outras divisões taxonómicas foram incluídas na categoria de alguma evidência.

Destas 17 divisões taxonómicas, 13 microorganismos foram cultivados anteriormente, enquanto 4 microorganismos ainda não foram cultivados.

Dos 13 microorganismos cultivados, 5 são espécies Gram positivas (*Eubacterium saphenum*, *Mogibacterium timidum*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Filifactor alocis* e *Enterococcus faecalis*) e 8 espécies são Gram negativos anaeróbicos (*Bacteroidales* [G-2] sp.oral taxon 274, *Porphyromonas endodontalis*, *Treponema vincentii*, *Megasphaera* BB166, *Seimonas sputigena* e *Fretibacterium fastidiosum*).

Do total destes novos patogénos identificados, 7 espécies são do filo Firmicutes, 5 pertencem a Bacteroidetes e Spirochaetes.

As restantes 5 espécies distribuem-se pelos filos Proteobacteria, Synergistetes e Candidatus Saccharibacteria.

A maioria das espécies descritas raramente se encontra envolvida em infecções extra orais com excepção de *E. faecalis*, *S. sputigena*, *T. medium* e espécies pertencentes ao filo Synergistetes e *Candidatus Saccharibacteria*.

### **2.3. Relação doenças periodontais e doenças sistémicas**

É consensual que doenças periodontais não constituem apenas um fenómeno local. Afectam e são afectadas pelas dinâmicas sistémicas dos pacientes.

Bacterémia é comum em indivíduos que tenham infecções orais. Usualmente é transitória, mas em pacientes com sistema imunitário deficitário pode levar à colonização de locais fora do ambiente oral e a patogénese.

Existe uma demonstrada associação entre patogénos periodontais e doenças pulmonares, doenças cardiovasculares, diabetes e complicações gestacionais. (S.Kumar, 2013)

### 2.3.1 Atrite reumatóide e doenças periodontais

Parecem existir mecanismos semelhantes para a etiologia de artrite reumatóide e periodontite, que motiva uma análise mais extensa desta patologia.

Artrite reumatóide é descrita como uma doença inflamatória poliartrítica, de etiologia multifactorial e patogénese mal compreendida; com uma prevalência de 5-10% em adultos e um rácio mulher – homem de 3:1; e que tem origem numa resposta imunológica inadequada que conduz a inflamação sinovial persistente, e consequente dano tecidual cartilágneo e ósseo. (Smit, E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, 2011)

Fumadores e predisposição genética são consistentemente referidos como grupo/factores de risco para artrite reumatóide (Detert, Pischon, Burmester, & Buttgerit, 2010); (Smit, E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, 2011); (Berthelot & Goff, 2010)

Mais de 30 variações em regiões genéticas estão associadas a artrite reumatóide. Indicadores deste tipo incluem variações para tirosina fosfatase (PTPN22); componente major do complexo de histocompatibilidade; classe II e Dr-beta1 (HLA-DRB1). (Smit, E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, 2011)

Marcadores serológicos para artrite reumatóide são anticorpos para proteínas citrulinadas e IgGM – factor reumatóide. Especificamente anticorpos anti queratina citrulinada, anti- vimentina citrulinada, anti-fibrinogénio citrulinado e anti- $\alpha$ -enolase citrulinada. Estes anticorpos podem ser detectados anos antes do estabelecimento clínico de artrite reumatóide. (Smit, E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, 2011); (Koziel, Mydel, & Potempa, 2014)

Vários autores referem uma alta incidência e associação constante e consistente no aumento da severidade de periodontite em pacientes com artrite reumatóide; e uma correlação forte em relação à prevalência de artrite reumatóide em pacientes periodontais (Berthelot & Goff, 2010); (Detert, Pischon, Burmester, & Buttgerit, 2010); (Koziel, Mydel, & Potempa, 2014)

É amplamente sugerida a implicação de bactérias tradicionalmente associadas a periodontite na expressão e progressão do quadro clínico da artrite reumatóide.

Detert et al (2010) indica que o sucesso de terapia antibiótica em pacientes com artrite reumatóide é revelador do papel destas infecções na etiologia desta doença.

As próprias semelhanças a nível de susceptibilidade genética e etiologia entre as duas patologias tem suscitado a curiosidade dos investigadores.

Em relação à implicação de bactérias orais na etiologia de artrite reumatóide, *P.gingivalis* é consensual como agente etiológico.

Especificamente, *P.gingivalis* é a única bactéria que expressa peptidil arginina deiminase (PAD). Esta enzima constitui um agente etiológico importante para a artrite reumatóide, já que é responsável pela citrulinização de diversas proteínas.

Põe-se a hipótese de que, em indivíduos susceptíveis, ocorra ou seja amplificada uma resposta autoimune a antígenos endógenos citrulinados. (Detert, Pischon, Burmester, & Buttgerit, 2010)

Foi já demonstrado que *P.gingivalis* tem capacidade para invadir condrócitos da articulação do joelho e induzir alterações celulares. (Smit, E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, 2011)

Detert, Pischon, Burmester, & Buttgerit (2010) sugerem ainda que a formação de superantígenos para artrite reumatóide possa ser influenciada pela presença de *P.intermedia* e *P.gingivalis* – através da estimulação da expressão de genes que codificam para a região de ligação de superantígenos em células T-CD4 (região Vβ).

Pacientes que sofrem de artrite reumatóide são submetidos a terapêuticas imunossupressoras de corticoesteroides, o que poderá reduzir as evidências clínicas de doença periodontal.

Contudo, terapia periodontal parece ter um efeito positivo na actividade patológica de artrite reumatóide, sendo necessária maior evidencia científica para aprofundar esta questão. (Smit, E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, 2011)

### **2.3.2 Aterosclerose e doenças periodontais**

Evidência de estudos epidemiológicos sugere um grau moderado de associação entre infecções periodontais e doenças vasculares, nomeadamente aterosclerose.

Tendo em conta que doenças periodontais acarretam um significativo aumento da carga patogénica individual e potenciação para bacterémia sistémica, é sugerida a caracterização de doenças periodontais como factor de risco para doenças vasculares. São referidos como factores de risco para aterosclerose: hipercolesterolémia, hábitos tabágicos, hipertensão, dieta rica em gorduras e carga patogénica individual. (A.Zelkha, Freilich, & Amar, 2011).

Os principais mecanismos etiológicos para aterosclerose envolvem invasão e disrupção celular endotelial. Estes factores são provocados por episódios recorrentes de invasão bacteriana e consequente indução de marcadores pro-inflamatórios e mobilização de macrófagos e monócitos nestes tecidos.

Estes mecanismos envolvem a expressão de duas moléculas implicadas directamente na etiologia de aterosclerose: adesina intercelular 1 e proteína quimiotática monocitária 1. (A.Zelkha, Freilich, & Amar, 2011)

A acumulação de todos estes intervenientes em locais específicos dos tecidos vasculares induz a formação de placas, cuja disrupção está ligada a múltiplas complicações cardíacas e episódios trombóticos. (A.Zelkha, Freilich, & Amar, 2011); (M.Kebschull, Demmer, & Papapanou, 2010)

A capacidade de invasão celular de *P.gingivalis* é factor de crucial importância na potenciação destes mecanismos. (A.Zelkha, Freilich, & Amar, 2011)

Kebschull, Demmer & Papapanou (2010) sugerem 3 mecanismos pelos quais infecções periodontais influenciam a formação, maturação e disrupção de placas ateroscleróticas.

Inicialmente, células epiteliais destes tecidos são invadidos por microrganismos patogénicos munidos de fímbrias, que se multiplicam em ambiente intracelular. Fímbrias e LPS activam TLR 2, resultando na expressão de variadas moléculas e células imunológicas que, em última instância, induzem destruição tecidual local.

A formação de LDL, provenientes do metabolismo de ácidos gordos, podem também induzir a formação de placas ateroscleróticas. Macrófagos activados a nível periodontal migram para o ambiente sub-endotelial transformam-se em macrófagos e, posteriormente, células espumosas após absorverem LDLs oxidadas. A apoptose destes macrófagos origina a acumulação de lípidos no espaço sub-endotelial, que são envolvidos em membranas fibrosas.

Microrganismos patogénicos nos locais de formação de placas ateróticas induzem apoptose de células epiteliais. Estes processos vão, eventualmente, induzir a ruptura das membranas fibrosas que envolvem a placa aterótica e expor factores pro-trombóticos, com consequente oclusão vascular.

Análise de estudos interventivos sugere resultados favoráveis em biomarcadores para aterosclerose após terapia periodontal eficaz. (M.Kebschull, Demmer, & Papapanou, 2010)

### **2.3.3 Associação obesidade e diabetes com doenças periodontais**

Forte evidência científica proveniente de estudos epidemiológicos sugere uma correlação positiva entre índices de massa corporal e susceptibilidade a infecções bacterianas e víricas. (A.Zelkha, Freilich, & Amar, 2011)

Obesidade afecta respostas imunológicas inata e adaptativa. Observam-se alterações ao nível da expressão genética e função de monócitos e macrófagos; e redução de capacidade regeneradora de tecidos.

Sugere-se que esta desregulação se deve à disrupção sistémica de vias de sinalização via TLRs (particularmente TLR 2 e 4) e inibição da produção de citocinas pro inflamatórias, resultando num estado de tolerância imunológica apelidado “homotolerance”. (A.Zelkha, Freilich, & Amar, 2011)

Este estado de tolerância traduz-se numa atenuação da resposta imunitária sistémica para microrganismos como *P.gingivalis* ou *P.intermédia*.

Com a sua subsistência destes patogénios facilitada, observa-se uma acentuação dos quadros clínicos associados com doenças periodontais.

Diabetes é definida como um factor de risco primário e inequívoco para periodontite (Tunes, Foss-Freitas, & Nogueira-Filho, 2010); (P.M.Preshaw, et al., 2011)

Por outro lado, periodontite é consensual como um factor negativo no controlo glicémico em pacientes diabéticos; e a incidência de complicações relacionadas com diabetes em pacientes periodontais parecem estar relacionadas com o grau de severidade de periodontite. (P.M.Preshaw, et al., 2011)

O impacto das doenças periodontais em níveis de hemoglobina glicosilada foi analisado num estudo prospectivo a 5 anos, envolvendo 2973 indivíduos não-diabéticos.

Os que apresentavam parâmetros clínicos iniciais consistentes com um maior grau de severidade de doença periodontal, apresentaram cerca de 5x mais valores absolutos de hemoglobina glicosilada ao longo de 5 anos, quando comparados com pacientes sem periodontite.

Este foi o primeiro estudo a reportar periodontite como possível meio de previsão da progressão de níveis de hemoglobina glicosilada em pacientes não-diabéticos. (P.M.Preshaw, et al., 2011)

Diabetes tipo 1 e 2 estão associadas a altos índices de marcadores sistémicos inflamatórios (IL6, TNF- $\alpha$  e Proteína C-reativa), que contribuem para uma série de complicações micro e macrovasculares e resistência a insulina. (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)

CRP é uma proteína pentamétrica plasmática sintetizada no fígado - por hepatócitos - ou localmente, em tecidos danificados e regulada por citocinas e TNF alfa. (Bansal, Pandey, D, & Asthana, 2014)

É considerada bio marcador para inflamação aguda e encontra-se em elevados níveis em pacientes com periodontite crónica, obesidade ou disfunções renais

Na presença de cálcio esta proteína liga-se a polissacarídeos da superfície celular de patógenos – activando a via clássica do sistema complemento e opsonizando bactérias para fagocitose.

Não só a sua associação com periodontite agressiva está bem documentada, como está também provada a redução dos níveis de CRP através de terapia mecânica e farmacológica de locais infectados. E embora Bansal et al (2014) refira estudos que falharam ao tentar estabelecer esta ligação, estes autores concluem que tanto periodontite crónica como agressiva estão claramente associadas a elevação nos níveis de CRP.

É sugerido que inflamação sistémica causada pelo estado de doença periodontal potencie os efeitos da diabetes, e que por seu lado, diabetes potencie a inflamação de tecidos periodontais; tendo como base a comparação dos níveis de PGE2 e IL-8 $\beta$  entre pacientes diabéticos e não-diabéticos com os mesmos níveis de severidade em termos de doença periodontal. (P.M.Preshaw, et al., 2011); (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)

Os mesmos autores referem que os monócitos de pacientes diabéticos produzem maiores quantidades de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e PGE2, quando confrontados com LPS bacteriano, quando comparados com indivíduos não-diabéticos.

Estudos em ratos de laboratório sugerem que diabetes interfere com a capacidade do organismo de reparar tecidos lesados por processos inflamatórios



Várias meta-análises e estudos interventivos indicam que terapia periodontal eficiente pode resultar numa diminuição de hemoglobina glicosilada. (P.M.Preshaw, et al., 2011); (Teles, Teles, Frias-Lopez, Paster, & Haffajee, 2013)

#### **2.4.     Gestação e doenças periodontais**

Existe robusta evidência da interrelação entre nascimentos prematuros, infecções bacterianas intra-uterinas e doenças periodontais.

George L.Mendz; Nadeem O.Kaakoush e Julie A.Quinlivan (2013) conduziram uma revisão sistemática englobando 13 estudos que se enquadraram nos critérios de inclusão.

Quanto a identificação de espécies bacterianas; um estudo analisou o microbioma intra-uterino de 349 mulheres com infecção intra-uterina ( de um total de 761 mulheres). As maiores frequências de filos medidas foram Firmicutes e Fusobacterias. As maiores frequências de géneros foram Mycoplasmatales e Lactobacilos. (GeorgeL.Mendz, NadeemO.Kaakoush, & JulieA.Quinlivan, 2013)

É sugerido que várias bactérias do ambiente orofaríngeo têm papel relevante em infecções intra-uterinas, apesar de usualmente a proveniência destas bactérias ser o ambiente vaginal.

Destaque para *Fusobacterium nucleatum*, *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Capnocytophaga spp.* Todas estas espécies são reportadas em diferentes estudos como agentes etiológicos de infecções intra-uterinas com potencial indutor de nascimento precoce e complicações fetais.

Outro estudo reportado envolveu 812 mulheres grávidas que exprimiam doenças periodontais pré-parto. Permitiu estabelecer uma forte associação entre esta patologia e nascimentos prematuros e suportar a noção de que bactérias patológicas presentes no ambiente oral podem se disseminar a nível sistêmico, incluindo a infecção intra-uterina. (GeorgeL.Mendz, NadeemO.Kaakoush, & JulieA.Quinlivan, 2013)

## **2.5. Farmacoterapia**

Prevenção em relação ao estabelecimento de doenças periodontais deve ser aplicada em grupos de alto risco, tais como fumadores, pacientes diabéticos ou indivíduos que expressem níveis de disrupção nos mecanismos de trânsito de neutrófilos. (Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D.Lambris, 2013)

Analisando literatura existente, parecem existir duas linhas emergentes em relação a terapia de doenças periodontais.

O controlo ou supressão da inflamação como principal abordagem terapêutica, como descrito por P.Mark Bartold and Thomas E.Van Dyke (2013), ou o controlo da infecção propriamente dita, especificamente de microorganismos patogénicos específicos, descrito por George Hajishengallis, Richard P.Darveau, e Michael A. Curtis (2013).

Aliando estes conceitos, uma via eficaz poderia ser também a regulação das dinâmicas da resposta do hospedeiro, nomeadamente do sistema complemento – especificamente interações C5aR-TLR2 . (Hajishengallis & D.Lambris, 2013)

Estes autores reportam que a injeção local de um antagonista de C5aR em ratos inibe completamente a perda óssea induzida por *P.gingivalis* (por mecanismos previamente descritos), mesmo quando administrada duas semanas após o estabelecimento do estado de periodontite.

É sugerido por Hajishengallis (2010) que uma intervenção a este nível teria que ser incrivelmente específica (inibição da via implicada no processo de patogênese, e não em todo o complemento, do que poderia advir complicações a nível do combate sistémico a outras infecções) e que intervenções tópicas representariam um baixo nível de risco.

### **2.5.1 Terapia antibiótica adjuvante de terapia mecânica**

David Herrera, Paula Matesanz, Antonio Bascones-Martínez e Mariano Sanz (2012) publicaram um artigo em que reúnem informação proveniente da base de dados Medline relativa a ensaios clínicos randomizados com follow up de pelo menos 3 meses, publicados entre 2010 e 2012 para antibióticos administrados sistémicamente e entre 2008 e 2012 para antibióticos administrados localmente.

Analisaram terapias antibióticas adjuvantes em periodontite agressiva – amoxicilina e metronidazol - e crónica – azitromicina e outros.

Em relação a evidência científica para a administração local de antibióticos, os investigadores reportam alta heterogeneidade de resultados e diferenças estatísticas pouco significantes entre grupos para diversos métodos de aplicação e diferentes antibióticos.

Destacam uma exceção para a aplicação de moxifloxacina adjuvante de terapia mecânica, que mostrou vantagens estatisticamente significantes quando comparada com terapia mecânica apenas e em pacientes com periodontite crónica moderada e grave. (Herrera, Matesanz, Bascones-martínez, & Sanz, 2012)

Evidência científica recente para a administração de antibióticos sistémicos também foi avaliada. Em casos de periodontite agressiva, 2 estudos reportam resultados positivos a níveis clínicos e biológicos após 3-6 meses, através de terapia comcomitante de amoxicilina e metronidazol com terapia mecânica. Os investigadores ressaltam que estes estudos excluíram pacientes fumadores, o que poderá explicar os resultados positivos quando comparados com outros estudos de terapia antibiótica. (Herrera, Matesanz, Bascones-martínez, & Sanz, 2012)

Muniz et al (2013) conduziram um estudo cujo objectivo foi analisar a eficácia do uso de Azitromicina como adjuvante de terapia periodontal não-cirúrgica revendo literatura disponível em MEDLINE-PubMed, LILACS e SciELO – utilizando os termos “azithromycin”, “periodontal treatment” e “periodontitis”.

Foram seleccionados 12 artigos de um total de 70 analisados. A maioria dos estudos utilizaram um protocolo de 500mg/dia durante 3 dias, com excepção para um estudo que administrou 500mg durante 5 dias; e outro que administrou 500mg no primeiro dia e 250mg/dia nos 4 dias seguintes.

Azitromicina tem um período de semi-vida longo, e actua ao nível da expressão proteica ribossomal das células bacterianas. É eficaz tanto para anaeróbios como para aeróbios, gram-positivos e gram-negativos; sendo particularmente potente para certas espécies de bactérias gram-negativas – características que o tornam particularmente atractivo para terapia em pacientes periodontais.

Foi sugerido um aumento na percentagem de espécies que desenvolveram resistência duas semanas depois da administração, ao longo de um período de 6 meses, e cuja população voltou a diminuir para níveis iniciais ao fim de 12 meses.

Foi também sugerido que azitromicina tem efeitos anti-inflamatórios e de redução da secreção de fluido crevicular a nível gengival.

Os investigadores reportam que a maioria dos estudos analisados são referentes a terapia em pacientes com periodontite crónica, e apenas um para pacientes com periodontite agressiva.

A maioria dos estudos apresentou reduções efectivas de sangramento à sondagem e na quantidade de microrganismos presentes independentemente da administração de azitromicina.

Alguns apresentaram melhorias nos parâmetros clínicos de profundidade de sondagem e níveis de inserção; e um estudo não revelou quaisquer vantagens clínicas para o uso de azitromicina como adjuvante de terapia convencional. (Muniz, et al., 2013)

Um estudo analisou a administração local de azitromicina, reportando melhores resultados a nível de profundidades de sondagem e ligação tecidual comparativamente aos grupos-controlo. Um caso de reacção alérgica e um de reacções a nível gastrointestinal foram reportados.

Muniz et al (2013) concluem que azitromicina seria um adjuvante seguro em termos de efeitos adversos e de resistências bacterianas, simples de aplicar e com alta probabilidade de cooperação por parte dos pacientes; com significativas vantagens clínicas para o uso adjuvante com terapia convencional.

Decorrente da análise da relação artrite reumatóide-periodontite, uma abordagem terapêutica a ter em conta em próximas investigações seria o foco na enzima peptidil-arginina deiminase (PPAD), produzida por *P.gingivalis* e notoriamente envolvida na patogénese de processos inflamatórios e autoimunes das doenças periodontais e artrite reumatóide. (Koziel, Mydel, & Potempa, 2014)

### **3. CONCLUSÕES**

Os mecanismos de etiologia das doenças periodontais baseiam-se primariamente na quantidade e qualidade de placa bacteriana presente nos biofilmes subgengivais e em susceptibilidade genética por parte do hospedeiro.

A evolução destes biofilmes medeia uma sobrecarga para o sistema imunitário do hospedeiro, que se traduz em parâmetros clínicos como inflamação gengival, perda de inserção e hemorragia.

A manutenção destas condições no ambiente subgengival possibilita a criação de nichos específicos, onde bactérias não comensais subvertem os mecanismos imunológicos dos hospedeiros e induzem virulência em todo o biofilme em prol da sua sobrevivência.

Os resultados são destruição tecidual e reabsorção óssea local; e migração bacteriana e inflamação a nível sistémico.

O estado de saúde do ambiente oral tem, portanto, um impacto directo no estado de saúde sistémica.

Níveis de controlo de placa bacteriana por parte dos pacientes podem ser indicadores preliminares do estado de saúde futura.

Cabe ao Médico Dentista educar os seus pacientes para a importância de manter um estado de equilíbrio no ambiente oral, e explicar os diversos modos em que este factor influencia a sua saúde e qualidade de vida.

No caso específico de pacientes periodontais, deve ser explicada a importância de manter esta patologia sob controlo, minimizar ou anular os seus efeitos sistémicos e prevenir patologias sistémicas que daí possam advir.

Em pacientes que sofram de patologias sistémicas concomitantes de patologia periodontal, deve ser explicada a importância de terapêutica periodontal eficaz e regulação de controlo da placa bacteriana na melhoria dos parâmetros clínicos gerais e prognóstico.



## **Bibliografia**

A.Curtis, M., Zenobia, C., & P.Darveau, R. (2011, October 10). The Relationship of the Oral Microbiota to Periodontal Health and Disease. *Pharmacological Research*.

A.Scannapieco, F. (2013, October 15). The Oral Microbiome: Its role in health and in Oral and Systemic Infections. *CMN*.

A.Zelkha, S., Freilich, R. W., & Amar, S. (2011, October 1). Periodontal Innate Immune Mechanisms Relevant to Atherosclerosis and Obesity. *Periodontol 2000*.

Bansal, T., Pandey, A., D, D., & Asthana, A. K. (2014, July). C-Reactive Protein (CRP) and its association with Periodontal Disease: A Brief Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*.

Bartold, P., & Dyke, T. E. (2013, June). Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*.

Berthelot, J.-M., & Goff, B. L. (2010, February 3). Rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Joint Bone Spine*.

Detert, J., Pischon, N., Burmester, G., & Buttgerit, F. (2010). The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis research & Therapy*.

Duarte, A., Meliço-Silvestre, A., Vaz, C. P., A.Arosa, F., Pereira, F. M., Freitas, G., . . . Duque, V. (2012). *Microbiologia Médica volume 2*. Lidel-Edições Técnicas.



- George L. Mendz, Nadeem O. Kaakoush, & Julie A. Quinlivan. (2013, October 16). Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Celular and infection microbiology*.
- Hajishengallis. (2010, December 15). Complement and Periodontitis. *Biochem Pharmacol*.
- Hajishengallis, G., & D. Lambris, J. (2013, November 1). Complement and dysbiosis in periodontal disease. *Immunobiology*.
- Hajishengallis, Toshiharu, Tomoki, Hajishengallis, & D. Lambris. (2013, February). Role of complement in host-microbe homeostasis of the periodontium. *Semin Immunol*.
- Hans, M., & Hans, V. M. (2011, May 12). Toll-like receptors and their dual role in periodontitis. *Journal of Oral Science*.
- Herrera, Matesanz, Bascones-martínez, & Sanz. (2012). Local and Systemic Antimicrobial Therapy in Periodontics. *Elsevier Inc*.
- Jain, S., & P. Darveau, R. (October de 2010). Contribution of Porphyromonas gingivalis lipopolysachharide to periodontitis. *Periodontol 2000*.
- Koziel, J., Mydel, P., & Potempa, J. (2014, January 24). The Link Between Periodontal Disease an Rheumatoid Arthritis: An Updated Review. *Rheumatoid Arthritits*.

- M.Kebschull, Demmer, R., & Papapanou, P. (2010, April 30). "Gum Bug, Leave My Heart Alone!" - Epidemiologic and Mechanistic Evidence Linking Periodontal Infections and Atherosclerosis. *J.Dent.Res.*
- Mahajan, A., Singh, B., Kashyap, D., Kumar, A., & Mahajan, P. (2013, September 11). Interspecies Communication and Periodontal Disease. *The Scientific World Journal.*
- Muniz, Oliveira, d., Carvalho, Moreira, Moraes, & Martins. (2013, February 13). Azithromycin: A new concept in adjuvant treatment of periodontitis. *European journal of Pharmacology.*
- P.M.Preshaw, A.L.Alba, D.Herrera, S.Jepsen, A.Konstantinidis, K.Makrilakis, & R.Taylor. (2011, November 6). Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia.*
- Pérez-Chaparro, P., C.Gonçalves, L.C.Figueiredo, M.Faveri, E.Lobão, N.Tamashiro, . . . M.Feres. (2014, July 29). Newly Identified Pathogens Associated with Periodontitis: A Systematic Review. *J DENT RES.*
- S.Kumar, P. (2013, October 12). Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe.*
- Signat, B., Roques, C., Poulet, P., & Duffaut, D. (2011). Role of *Fusobacterium nucleatum* in Periodontal Health and Disease. *Curr.Issues Mol. Biol.*
- Smit, M. d., E.Brouwer, A.Vissink, & Winkelhoff, A. v. (2011, March 29). Rheumatoid arthritis and periodontitis; a possible link via citrullination. *Anaerobe.*

- Socransky, Hafajee, Cugini, Smith, & Kent. (1998, February 25). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*.
- T.Pöllänen, M., Paino, A., & Ihalin, R. (7 de August de 2013). Environmental Stimuli Shape Biofilm Formation and the Virulence of Periodontal Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Teles, R., Teles, F., Frias-Lopez, J., Paster, B., & Haffajee, A. (2013, June 01). Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontol 2000*.
- Tunes, R. S., Foss-Freitas, M. C., & Nogueira-Filho, G. d. (2010). Impacto of Periodontitis on the Diabetes-Related Inflammatory Status. *J. Can. Dent. Association*.
- Wade, W. G. (14 de November de 2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*.
- Wakabayashi, H., Kondo, I., Kobayashi, T., Yamauchi, K., Toida, T., Iwatsuki, K., & Yoshie, H. (2010, February 14). Periodontitis, periodontopathic bacteria and lactoferrin. *biometals (2010)*.
- Visser, M., & Ellen, R. (2011, January 14). New insights into the emerging role of oral spirochaetes in periodontal disease. *Clin.Microbiol Infect*.
- Wright, C. J., Burns, L. H., Jack, A. A., Back, C. R., & C., L. (2014, April 1). Microbial interactions in building of communities. *Molecula Oral microbiol*.

Xie, G., Chain, P., Lo, C., Liu, K.-L., Gans, J., Merritt, J., & Qi, F. (2011, December 1). Community and gene composition of a human dental plaque. *Molecular oral microbiome*.

Zaura, E., A.Nicu, E., P.Krom, B., & BartJ.F.Keijser. (2014, June 26). Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. *CELLULAR AND INFECTION MICROBIOLOGY*.

Zhang, C.Meredith, & Kahne. (2013, October 19). On the essenciality of lipopolysacharide to Gram-negative bacteria. *Growth and development:prokaryotes*.

Zijnge, V., Leeuwen, M. B., Degener, J. E., Abbas, F., Thurnheer, T., Gmür, R., & Harmsen, H. J. (24 de February de 2010). Oral Biofim Architecture on Natural Teeth.